

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
en
Biología y Tecnología Aplicada a la
Reproducción Humana Asistida

MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS

Autor: María García Rodríguez

Tutor: María Gaytán Muñoz

Alcobendas, septiembre 2023

ÍNDICE

RESUMEN	2
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	3
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. DIFERENCIAS ENTRE FIV CONVENCIONAL Y IVM	6
2. OBJETIVOS	7
3. METODOLOGÍA	7
4. DESARROLLO FOLICULAR Y MADURACIÓN OVOCITARIA.....	8
4.1. MADURACIÓN CITOPLASMÁTICA.....	9
4.2. MADURACIÓN NUCLEAR.....	11
5. MADURACIÓN IN VITRO.....	13
5.1. HISTORIA DE LA IVM.....	14
5.2. MÉTODO DE CULTIVO IVM. IVM BIFÁSICA Y CNP.....	14
5.3. RECOGIDA DE OVOCITOS (OPU) EN IVM	18
5.4. LIMITACIONES. CALIDAD OVOCITARIA TRAS IVM.....	18
5.5. VARIANTES DE IVM	19
5.6. IVM EN OVOCITOS PROCEDENTES DE TEJIDO OVÁRICO CRIOCONSERVADO	20
5.7. PROS Y CONTRAS.....	21
5.8. GRUPOS DE PACIENTES QUE PODRÍAN BENEFICIARSE DE IVM.....	22
5.8.1. BENEFICIOS EN MUJERES CON SOP	22
5.8.2. BENEFICIOS EN MUJERES CON CÁNCER	22
5.8.3. BENEFICIOS EN OTROS GRUPOS DE MUJERES.....	23
6. RESULTADOS ACTUALES DE IVM.....	23
7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO	24
8. BIBLIOGRAFÍA.....	26

RESUMEN

La maduración in vitro (IVM) es un tema de debate en curso en el campo de la tecnología de reproducción asistida que, a pesar de contar con una extensa investigación, aún no se ha convertido en una opción de tratamiento convencional ampliamente aceptada. Sin embargo, numerosos estudios han demostrado el potencial de la IVM en diversas aplicaciones donde típicamente se utiliza la fecundación in vitro (FIV), especialmente en la preservación de la fertilidad y el manejo del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

El presente trabajo pretende dar una visión actualizada acerca de las últimas evidencias encontradas respecto al uso de la IVM en reproducción humana asistida incluyendo desafíos, técnicas asociadas, limitaciones y resultados actuales, así como sus aplicaciones y los beneficios a los que puede dar lugar en distintos grupos de pacientes.

Palabras clave

Maduración in vitro (IVM), preservación de la fertilidad, maduración ovocitaria, tecnología de la reproducción asistida (ART), fecundación in vitro (IVF), complejo cúmulo-ovocitario (COC).

ABSTRACT

In vitro maturation (IVM) is an ongoing topic of debate in the field of assisted reproductive technology that, despite extensive research, has not yet become a widely accepted conventional treatment option. However, numerous studies have demonstrated the potential of IVM in various applications where in vitro fertilization (IVF) is typically used, especially in fertility preservation and the management of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS).

This study aims to provide an updated overview of the latest evidence regarding the use of IVM in assisted human reproduction, including challenges, associated techniques, limitations, and current outcomes, as well as its applications and the benefits it can offer in different patient groups.

Key words

In vitro maturation (IVM), fertility preservation, oocyte maturation, assisted reproductive technology (ART), in vitro fertilization (IVF), cumulus-oocyte complex (COC).

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

IVM. *In Vitro Maturation*. Maduración In Vitro.

TRA. Técnica de Reproducción Asistida.

HOC. Hiperestimulación Ovárica Controlada.

SHO. Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.

SOP. Síndrome de Ovarios Poliquísticos.

FIV. Fecundación in vitro.

MII. Metafase II.

FIV. Fecundación In Vitro.

VG. Vesícula Germinal.

COC. *Cumulus–oocyte complex*. Complejo cúmulo-ovocito.

LH. *Luteinizing hormone*. Hormona luteinizante.

AMPc. *Cyclic Adenosine monophosphate* Adenosín monofosfato cíclico.

GVBD. *Germinal Vesicle Breakdown*. Ruptura de la VG.

MI. Metafase I.

ZP. Zona Pelúcida.

TZP. Proyecciones Transzonales.

GJ. *Gap Junction*.

OSF. *Oocyte Secreted Factors*. Factores secretados por el ovocito.

ODGF. *Oocyte Derived Growth Factors*. Factores de crecimiento derivados del ovocito.

TGF- β . *Transforming growth Factor β* . Factor de crecimiento transformante β .

GDF. *Growth Differential Factor*. Factor de crecimiento diferencia.

BMP. *Bone Morphogenetic Protein*. Proteína morfogénica ósea.

AMH. *Anti-Müllerian Hormone*. Hormona Antimülleriana.

cGMP. *Cylic Guanosine Monophosphate*. Guanosín monofosfato cíclico.

MPF. *Maturation promoting factor.* Factor promotor de la maduración.

CDK1. *Cyclin Dependent Kinase 1.* Ciclina dependiente de kinasa 1.

OMI. *Oocyte Maturation Inhibitor.* Inhibidor de la maduración de los ovocitos.

GPR. *G-protein coupled receptor.* Receptor acoplado a proteína G.

NPPC. *Natriuretic peptide precursor type C.* Precursor del péptido natriurético C.

NPR2. *Membrane Natriuretic Peptide Receptor 2.* Receptor de membrana del péptido natriurético 2.

PDE. *Phosphodiesterase.* Fosfodiesterasa.

RNV. Recién Nacido Vivo.

CNP. *C-type natriuretic peptide.* Péptido natriurético tipo C.

PDE3A. *Phosphodiesterase 3A.* Fosfodiesterasa 3ª.

GC. Gránulos Corticales.

M-SER. *Mitochondria-Smooth Endoplasmic Reticulum.* Mitocondria-retículo endoplasmático liso.

M-V. *Mitochondria- Vacuol.* Mitocondria-vacuola.

OPU. *Ovum Pick Up.* Recogida de óvulos.

CAPA-IVM. IVM de capacitación.

IBMX. *3-isobutyl-1-methylxanthine.* 3-isobutil-1-metil-xantina.

OTO-IVM. *Ovarian Tissue Oocyte-IVM.* IVM de ovocitos de tejido ovárico.

1. INTRODUCCIÓN

La maduración in vitro de ovocitos (IVM) es una técnica de reproducción asistida (TRA) mediante la cual se recuperan ovocitos meióticamente inmaduros de ovarios no estimulados o mínimamente estimulados para ser cultivados in vitro antes de su fecundación. Se trata por lo tanto de una alternativa a la hiperestimulación ovárica controlada (HOC), en la cual los pacientes se someten a una administración de gonadotropinas exógenas, previa regulación hipofisaria, para la recuperación de ovocitos ya madurados in vivo.

El principal beneficio de IVM es la reducción de la estimulación con gonadotropinas en la paciente eliminando así el riesgo del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) en pacientes de alto riesgo como aquellas con ovarios poliquísticos o síndrome de ovarios poliquísticos (SOP). Además, esta técnica tiene beneficios adicionales en la preservación de la fertilidad, sobre todo en casos de pacientes oncológicas, reduce los costes asociados al tratamiento y puede ser empleado en otros casos como síndrome de ovarios resistentes o tras varios ciclos donde no se obtienen ovocitos maduros.(1)

Los ovarios contienen aproximadamente 400000 ovocitos en la pubertad con un potencial variable para madurar, ovular, fecundar y desarrollar descendencia viable. Sin embargo, solamente un 0,1% de ellos son seleccionados para este proceso. En los tratamientos de FIV convencional la hiperestimulación ovárica permite aprovechar esto al "rescatar" los folículos en crecimiento de la atresia durante una ola de desarrollo folicular. (2)

Es bien conocido que el tamaño del folículo ovárico está asociado con la competencia de desarrollo del ovocito, es decir, con un folículo preovulatorio que contiene un ovocito completamente desarrollado y competente. Por el contrario, en IVM al ser la estimulación hormonal de la paciente mínima o nula, la mayoría de los ovocitos se extraen de pequeños folículos antrales (5-12 mm), que, a pesar de estar completamente desarrollados, no son completamente competentes desde una perspectiva molecular y, como tales, tienen una menor capacidad para apoyar el desarrollo embrionario y fetal en comparación con los ovocitos de los folículos preovulatorios. Por esta razón, una necesidad crítica en la IVM clínica es comprender las deficiencias moleculares en los complejos cúmulo ovocito (COCs) menos desarrollados de folículos antrales pequeños y facilitar la capacitación de estos ovocitos in vitro. (2)

La investigación de IVM ha progresado en los últimos años para mejorar significativamente las tasas de éxito y proporcionar evidencia de seguridad en términos de resultados neonatales. Sin embargo, esta técnica presenta un gran desafío y es que, como se ha mencionado anteriormente,

los ovocitos de IVM han demostrado tener una competencia de desarrollo reducida en comparación con sus contrapartes maduras in vivo. (3)

1.1. DIFERENCIAS ENTRE FIV CONVENCIONAL Y IVM

La maduración del ovocito es la culminación de un prolongado periodo de crecimiento y desarrollo ovocitario y folicular conjunto. Durante semanas, el ovocito adquiere gradualmente la maquinaria celular necesaria para permitir el desarrollo temprano del embrión, adquiriendo un estado de competencia ovocitaria la cual se encuentra intrínsecamente ligada al proceso de foliculogénesis y a la correcta formación del folículo en desarrollo.

El ovocito humano alcanza su tamaño completo (~100 a 120 μm de diámetro) en la etapa de folículo antral pequeño, mientras que el tamaño folicular en esta etapa se corresponde solamente con una fracción del que será su diámetro ovulatorio final. Este diámetro se encuentra estrechamente relacionado con la capacidad de un ovocito para reanudar y completar la meiosis.

La cinética de maduración de los ovocitos ha sido estudiada cultivando ovocitos inmaduros mediante IVM, viéndose que se alcanza el estadio de metafase II (MII) a las 36-48h. No obstante, incluso si un ovocito inmaduro progresa a la etapa MII con el uso de IVM (es decir, completa la maduración nuclear), es posible que no haya experimentado la maduración citoplasmática y por lo tanto no haya logrado la competencia ovocitaria completa que le permita mantener el desarrollo embrionario temprano.(4)

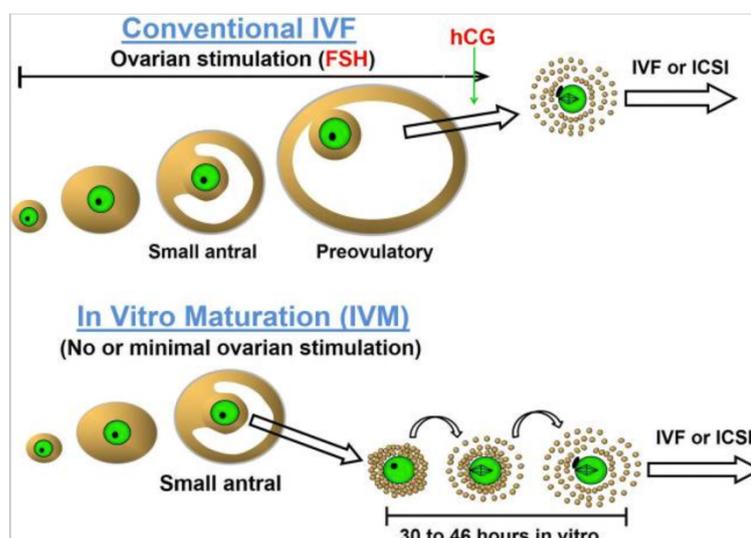


Figura 1. Diferencias entre FIV convencional y IVM.(3)

Con todo esto se puede concluir de forma general que las principales diferencias entre FIV convencional y IVM son las siguientes:

- > En los ciclos de FIV convencional las pacientes se someten a una HOC, mientras que en IVM la estimulación ovárica es mínima o nula antes de la punción ovocitaria.
- > En los ciclos de FIV convencional los ovocitos son recolectados de folículos preovulatorios, mientras que en IVM estos son recolectados de folículos antrales de pequeño tamaño, dificultando la punción.
- > En los ciclos de IVM, como su nombre indica, los ovocitos maduran meióticamente in vitro desde la etapa de vesícula germinal (VG) hasta extraer el primer corpúsculo polar, es decir, hasta MII.

En todo el proceso a partir de este momento los ovocitos son tratados igual que los ovocitos maduros de FIV convencional.(3)

2. OBJETIVOS

- Definir en qué consiste la maduración in vitro de ovocitos.
- Identificar los beneficios que supone el uso de esta técnica para grupos concretos de pacientes y para la población en general.
- Conocer la situación actual del uso de IVM a nivel clínico en el ámbito reproductivo.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de la presente memoria escrita se hizo una búsqueda inicial en buscadores bibliográficos (como Pubmed, Science Direct, Medline o Scopus) de palabras clave relacionadas con el tema, como “IVM”, “Oocyte maturation”, “Fertility preservation”, “Assisted Reproductive Technology”, “In Vitro Fertilization” “Cumulus–Oocyte Complex”, “Follicle”, etc, así como extensas y diferentes combinaciones de los términos.

Entre los resultados obtenidos, se filtró cuáles serían incluidos atendiendo a varias razones: título, resumen y fecha de publicación. Una vez escogidos, se indagó a lo largo de las referencias incluidas en estos siguiendo los dos mismos criterios.

En total se obtuvieron 37 artículos que fueron leídos y analizados de forma exhaustiva con el fin de comprender e integrar la información contenida en los mismos y seleccionar aquella información válida para nuestro escrito. 8 estudios fueron descartados porque no eran de interés para dar respuesta a los objetivos de esta revisión o porque fueron publicados en años anteriores a que la técnica se planteara como de potencial aplicación en medicina reproductiva.

4. DESARROLLO FOLICULAR Y MADURACIÓN OVOCITARIA

La meiosis ovocitaria comienza durante la embriogénesis, quedando detenida en la primera etapa, donde el DNA se presenta condensado en cromatina y protegido por una envoltura nuclear bien definida. En esta fase los ovocitos se encuentran formando folículos primordiales, una población "en reposo" de células germinales detenidas en dictioteno de la profase I (GV) rodeados por unas pocas células de granulosa aplanadas (*Figura 2*). El reclutamiento para el crecimiento ocurre a lo largo de la vida reproductiva de la mujer y se requiere de una secuencia de procesos regulados con precisión para que se produzca el completo desarrollo del ovocito/folículo. Dicha secuencia comienza con el inicio del crecimiento del folículo primordial hasta la etapa de folículo preantral en la cual se produce la formación de una cavidad llena de líquido, el antrum. Posteriormente continúa la expansión a la etapa preovulatoria o de folículo de Graaf para finalmente producirse una ruptura en respuesta al pico de LH a mitad del ciclo que libera el complejo cúmulo-ovocito en la ovulación. (5)

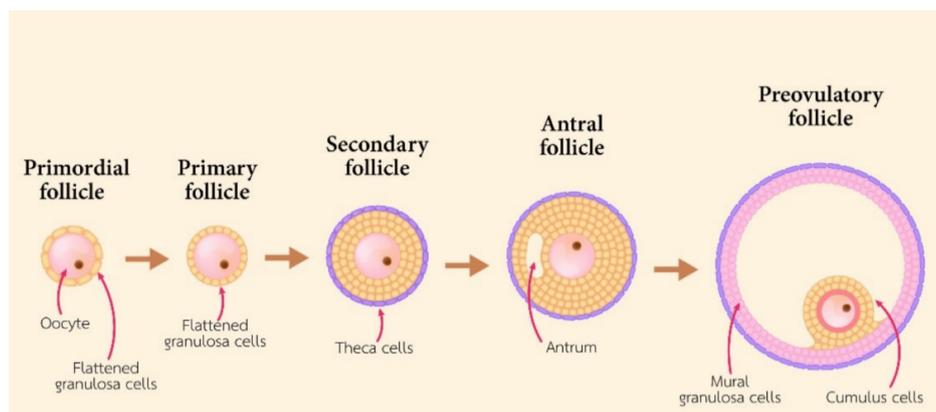


Figura 2. Diagrama esquemático del desarrollo folicular(6)

Tras la adquisición de la madurez reproductiva en la pubertad la liberación hipofisaria de gonadotropinas es la encargada de estimular el crecimiento folicular y ovocitario. Por lo tanto, mientras que el reclutamiento secundario depende directamente de estas hormonas pituitarias, el crecimiento del folículo primordial es un proceso independiente de gonadotropinas, donde la comunicación entre las células del cúmulo y el ovocito es de crucial importancia. Esta interrelación células del cúmulo-ovocito proporciona apoyo metabólico y señales reguladoras al gameto femenino fundamentales para la maduración citoplasmática.(7)

Para que un ovocito sea competente es necesario que tanto la maduración nuclear como la citoplasmática se produzcan de forma correcta. Sin embargo, aunque la maduración nuclear y citoplasmática son procesos vinculados, pueden ocurrir de forma independiente, pudiendo darse anomalías en el desarrollo si alguna de ellas no se realiza de forma completa. (4)

Durante la maduración nuclear, el ovocito diploide en MI extruye la mitad de su material genético en un corpúsculo polar y hace la transición hacia un gameto haploide en metafase II. Por otro lado, la maduración citoplasmática prepara al ovocito para satisfacer las demandas metabólicas de la fecundación y el crecimiento del embrión gracias a la comunicación con las células del cúmulo como ha sido mencionado anteriormente. (7)

Se cree que los ovocitos procedentes de maduración in vitro constan de un menor potencial de desarrollo debido a su inmadurez citoplasmática. Esto es así ya que en el momento que se libera el COC de un folículo, se reanuda la meiosis, y por lo tanto se pierden uniones comunicantes con las células del cúmulo. De esta manera la suplementación de nutrientes y moléculas de señalización se detiene, haciendo que la organización y el contenido del citoplasma de ovocitos IVM se asemeje más a la etapa de VG que a la de MII. (8)

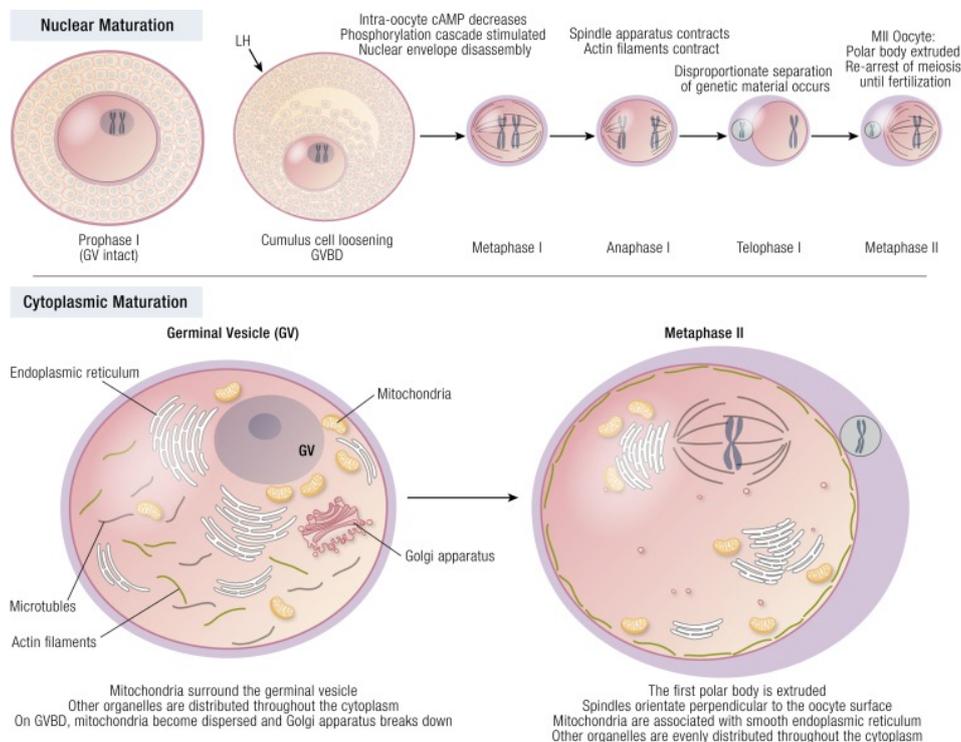


Figura 3. Maduración ovocitaria.(7)

4.1. MADURACIÓN CITOPLASMÁTICA

Durante la fase temprana de crecimiento, el ovocito secreta glicoproteínas que se condensan a su alrededor para formar zona pelúcida (ZP) que lo separará de las células de la granulosa. Los folículos primordiales consisten en una sola capa de células planas de granulosa, que irán cambiando de forma y número durante el desarrollo, dando lugar a dos capas (células del cúmulo y células de la granulosa mural), separadas por el antro (cavidad llena de líquido folicular).

Para que el ovocito alcance la maduración citoplasmática es imprescindible su contacto con las células de la granulosa a través de proyecciones transzonales (TZP) que penetran a través de la zona pelúcida alcanzando la superficie del oolema (membrana del ovocito). Una forma de TZP que permite el intercambio bidireccional de sustratos de bajo peso molecular es la unión gap (GJ) que además de unir al ovocito con las células de la granulosa, crea numerosas conexiones entre las células de granulosa adyacentes. Esto último sienta la base para la formación de una red de comunicación intercelular entre las células somáticas del folículo ovárico lo cual es verdaderamente importante también debido a que la capa de células de la granulosa es completamente no vascular.

Las uniones tipo gap están compuestas por proteínas de la familia de las conexinas, siendo las más importantes la conexina 43 (Cx43), que desempeña un papel principal en la foliculogénesis y aumenta su expresión en respuesta a FSH, y la conexina 37 (Cx37) responsable principalmente de la comunicación entre el ovocito y las células de la granulosa. Se ha demostrado que el buen funcionamiento de las uniones comunicantes (GJ) es necesario para lograr tanto la correcta maduración citoplasmática como nuclear.

El crecimiento, desarrollo y adquisición de la competencia de los ovocitos se encuentra fuertemente influenciado por el microambiente del folículo ovárico y las señales maternas a través de las células de granulosa y del cúmulo. Como se ha mencionado previamente la interacción cúmulo-ovocito es bidireccional: el ovocito secreta factores de crecimiento (OSF/ODGF) que afectan a las células foliculares adyacentes influyendo en procesos como la foliculogénesis; mientras que las células del cúmulo proveen al ovocito de numerosas moléculas, entre ellas algunas clave para la señalización, como por ejemplo, cGMP o cAMP. Esto es así debido a que, de forma contraria a las células de la granulosa y del cúmulo, los ovocitos no constan de ciertos receptores importantes, como los receptores LH.

En esta comunicación ovocito-células somáticas los factores pertenecientes a la familia de proteínas TGF- β juegan un papel importante, contando con unas 35 proteínas, entre ellas el grupo TGF- β , activina/inhibina, GDF, BMP y hormona antimülleriana (AMH), etc. Ha sido demostrado que uno de los factores de crecimiento más importantes es el GDF-9, un factor paracrino cuya tarea es conducir a la plena competencia de desarrollo de los ovocitos. Existen otros factores paracrinos producidos por el ovocito, como el GDF-9B, también conocido como BMP-15, cuyo papel en la regulación del desarrollo folicular ha sido demostrado por su presencia en folículos en crecimiento.

Tanto GDF-9 como BMP-15 son responsables de activar las vías de señalización del cúmulo, participando en la diferenciación de dichas células mediante la regulación de genes clave y procesos celulares. Se ha observado que la supresión de los genes que dan lugar a estas proteínas (BMP-15 o GDF-9) afecta directamente a la fertilidad: la expresión anormal de GDF9 está asociada con el SOP y las mutaciones tanto de GDF9 como de BMP15 están asociadas con insuficiencia ovárica.

Además, ha sido comprobado que la adición de BMP-15 y GDF-9 al medio de maduración in vitro aumenta la competencia de desarrollo de los ovocitos. (9)

4.2. MADURACIÓN NUCLEAR

Una vez más, este proceso se da de forma gradual gracias a la interacción del ovocito con las células somáticas que lo rodean. Destacan dos moléculas de señalización involucradas en la regulación de la meiosis a nivel de comunicación intercelular: el cAMP y el cGMP. Estas son las encargadas de mantener la inhibición de la meiosis, desempeñando un papel importante en la regulación de la maduración ya que bloquean e inician diferentes procesos meióticos.

El reinicio de la meiosis se produce gracias al factor promotor de la maduración (MPF), un heterodímero formado por dos subunidades: la ciclina B reguladora y la CDK1 catalítica.

A medida que el folículo crece, el ovocito también lo hace hasta alcanzar su tamaño óptimo a la vez que aumenta la expresión de CDK1, hecho que lo acerca a la etapa previa a la ovulación. Alcanzados los niveles necesarios de CDK1, este se activa gracias a la eliminación de grupos fosfato de residuos de tirosina (Tyr 14 y Tyr 15) y a la unión con la ciclina B.

La reanudación de la meiosis puede darse en respuesta a la inducción hormonal o al aislar al ovocito del entorno folicular para ser cultivado in vitro. Durante esta reactivación de la meiosis, la forma activa de MPF induce la fosforilación y despolimerización de la lámina produciendo la rotura de la envoltura nuclear y la desaparición del nucléolo (GVBD). Hasta este momento la cromatina se encontraba descondensada y por lo tanto transcripcionalmente activa, pero con el crecimiento del COC, se producen cambios que la condensan dando lugar a cromosomas que se colocan en la placa metafásica. Durante esta etapa, MI, se da una disminución de la actividad MPF por degradación proteolítica de ciclina B, la cual vuelve a aumentar durante la MII gracias a la síntesis de ciclina B y su unión a CDK1.

Por otro lado, en el mantenimiento de la detención en profase I del ovocito participan varias moléculas, entre ellas la OMI (inhibidora de la maduración ovocitaria), cGMP y cAMP. Estas

llegan al ovocito desde las células de la granulosa mural y del cúmulo a través de uniones comunicantes y a través del líquido folicular.

Los altos niveles de cAMP requeridos para esta detención se dan gracias a varios procesos:

- Dentro del ovocito se produce gracias a la activación de los receptores acoplados a proteínas G (GPR) GPR3 y GPR12, en la membrana ovocitaria, que activan la adenilato ciclasa.
- En las células de la granulosa el precursor del péptido natriurético C (NPPC) estimula la producción de cGMP a través del receptor NPR2 específico. El cGMP se difunde a través de las uniones gap, para inhibir la actividad de la fosfodiesterasa (PDE) y la hidrólisis del cAMP, manteniendo un alto nivel de cAMP en los ovocitos.

En este estado la proteína quinasa dependiente de cAMP regula la actividad de MPF mediante la fosforilación de CDK1 y por lo tanto la inactivación del complejo CDK1-ciclina B, manteniendo al ovocito detenido. (7,9)

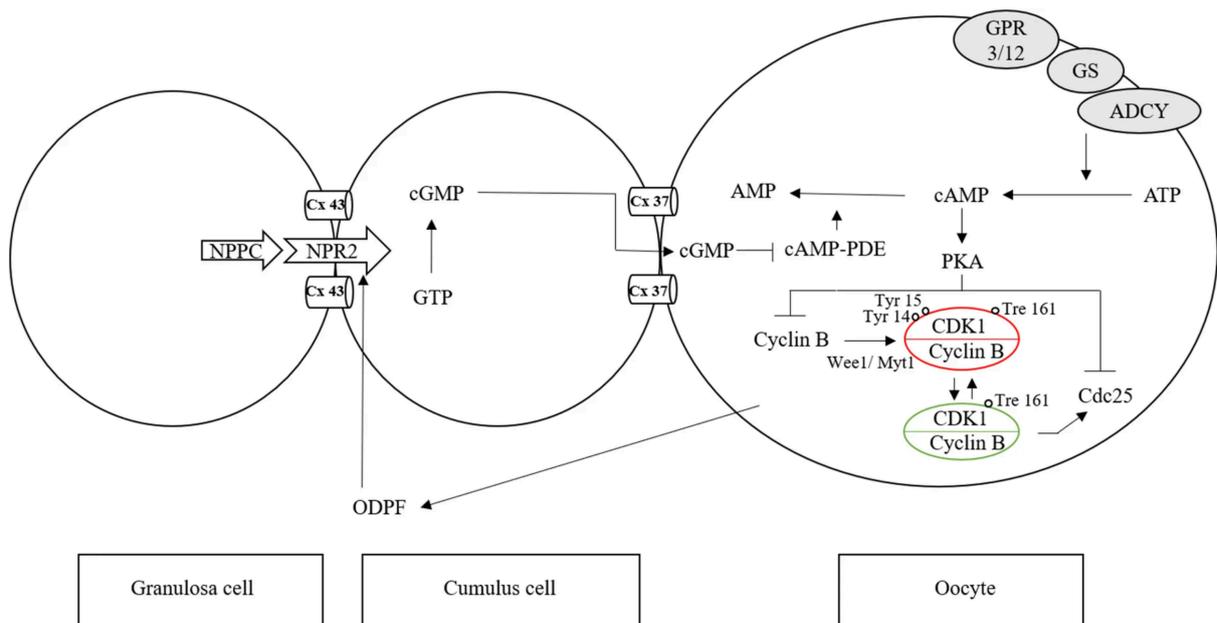


Figura 4. Esquema del mantenimiento de la detención meiótica.(9)

En el ciclo natural, los niveles de cAMP dentro del ovocito disminuyen en respuesta al pico de LH de mitad del ciclo, lo que permite la reanudación de la meiosis, con la consiguiente extrusión del corpúsculo polar, que lo preparará para acoger al espermatozoide. (7,9)

5. MADURACIÓN IN VITRO

La maduración in vitro de ovocitos ha experimentado mejoras significativas en los últimos años. Se define como la maduración de complejos cúmulo-ovocito inmaduros (COC) recolectados in vitro de pequeños folículos antrales. Este procedimiento consta de dos pasos:

- > Recolectar COC inmaduros de individuos mínimamente estimulados o no estimulados.
- > Inducir la maduración de COC hasta la etapa MII in vitro.

En términos de beneficios, la IVM se puede utilizar en pacientes para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica (OHSS), puede ser una solución para problemas reproductivos en pacientes con enfermedades especiales, como el síndrome de ovario resistente, ya que no pueden tratarse con fecundación in vitro (FIV), etc. La IVM también tiene la capacidad de capturar ovocitos en pequeños folículos antrales, lo que beneficia los procedimientos de preservación de la fertilidad ya que al combinar la IVM con estrategias de preservación de la fertilidad existentes, se puede mejorar la eficiencia de este proceso.

Lamentablemente, en la actualidad la IVM no se utiliza ampliamente debido a su baja eficiencia en comparación con la FIV, y esto se debe a dos razones principales: las tasas de recuperación y maduración de los ovocitos después de la IVM no son tan altas como las obtenidas después de la estimulación ovárica controlada y los ovocitos desarrollados a partir de los sistemas de cultivo actuales tienen una competencia de desarrollo generalmente inferior a la de los ovocitos madurados en el entorno natural del folículo.

A pesar de esto, la IVM está ganando cada vez más atención por parte de los especialistas en fertilidad debido a sus ventajas en términos de seguridad, conveniencia, costo y la posibilidad de evitar el SHO. Además, en los últimos años, se han realizado avances significativos que han mejorado la eficiencia y la aplicación de la IVM.

El más importante de estos avances es la IVM bifásica, un procedimiento que consta de una fase de cultivo previo a la maduración (pre-IVM) seguido de la fase de maduración propiamente dicha. Dicha fase de cultivo pre-IVM utiliza el péptido natriurético tipo C (CNP) y ha demostrado ser eficaz para ovocitos inmaduros con una estimulación mínima o sin estimulación siendo considerado el mayor avance en este ámbito en décadas. (10)

5.1. HISTORIA DE LA IVM

La maduración in vitro de ovocitos es una tecnología con una larga trayectoria. En el pasado, resultaba complicado obtener ovocitos maduros directamente del cuerpo humano, por lo que los primeros intentos de fecundación in vitro se realizaron utilizando ovocitos inmaduros de conejo.

En la década de 1960, el grupo de R.G.Edwards llevó a cabo investigaciones fundamentales sobre la maduración in vitro de ovocitos humanos, sentando las bases de las primeras técnicas de FIV basadas en la maduración in vitro temprana.

En 1991, Cha et al. informaron sobre el primer nacimiento de un bebé sano concebido a partir de ovocitos madurados in vitro recolectados de ovarios donados sin estimulación hormonal previa. Este acontecimiento marcó un hito importante en el campo de la IVM.

Posteriormente, en 1994, una paciente con síndrome de ovario poliquístico (SOP) fue sometida a IVM y logró tener éxito en concebir y dar a luz a su propio bebé. Este fue el primer bebé concebido mediante IVM en el mundo. Desde entonces, se estima que han nacido más de 5000 bebés concebidos mediante IVM en todo el mundo.

Todos estos eventos destacados en la historia de la IVM demuestran su validez y éxito en el campo de la reproducción asistida. A medida que la tecnología ha avanzado, se han logrado mejoras significativas en términos de eficacia y resultados. La IVM sigue siendo una opción valiosa para el tratamiento de la infertilidad y ofrece esperanza a las parejas que enfrentan dificultades para concebir. (10)

5.2. MÉTODO DE CULTIVO IVM. IVM BIFÁSICA Y CNP

Actualmente, no existe un método de cultivo uniforme para IVM de ovocitos humanos, lo que sumado con las diferencias en la fuente de ovocitos empleada y los sistemas de cultivo utilizados en cada centro hace que las tasas de éxito pueden variar considerablemente.

En la mayoría de los casos tras la recuperación de ovocitos se procede al cultivo directo de aquellos inmaduros con el objetivo de obtener ovocitos MII, lo que se conoce como IVM convencional o estándar (*Figura 6*). Dependiendo de si se realiza cebado con hCG antes de la recuperación de los ovocitos, la IVM convencional se puede dividir en dos sistemas:

- > Sin cebado de hCG. Los complejos cúmulo-ovocito inmaduros se recuperan directamente y se maduran in vitro.

> Con cebado de hCG. Se administra hCG 36-38 horas antes de la recuperación de los complejos ovocito-cúmulo. Esto significa que se recolectan ovocitos en diferentes etapas de maduración durante la recuperación de un solo ovocito. Aquellos en estadio MII se someten directamente a ICSI, mientras que los ovocitos MI y VG se maduran in vitro para posteriormente fecundarlos mediante ICSI.

Por lo tanto, en el sistema con estimulación con hCG, se requerirán múltiples rondas de evaluación de maduración e ICSI, lo que complica su manejo (*Figura 5*).

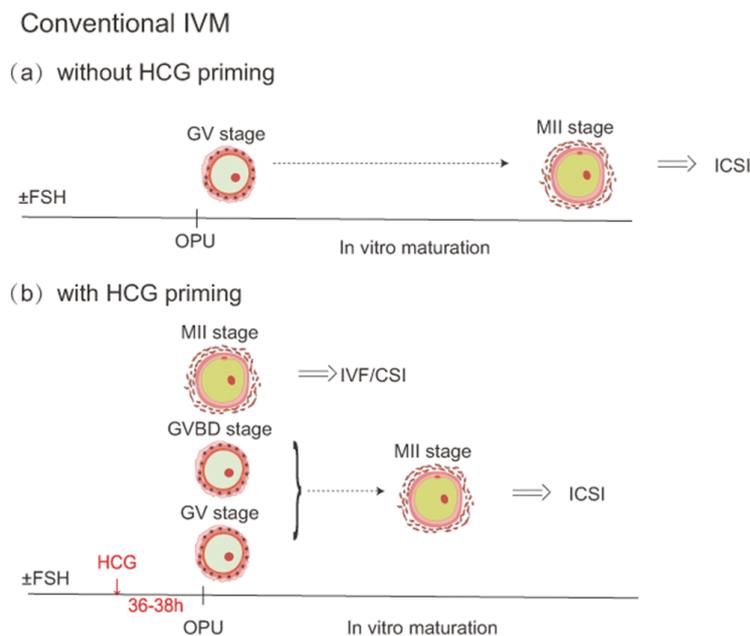


Figura 5. IVM convencional con o sin cebado con hCG.(10)

La sincronización entre la maduración meiótica y citoplasmática del ovocito es crucial para lograr el éxito en la fecundación y en el desarrollo previo y posterior a la implantación. Sin embargo, la IVM convencional se enfoca principalmente en promover la maduración nuclear y no brinda un adecuado soporte para la maduración citoplasmática. Esto resulta en una falta de sincronización entre ambas etapas de maduración, lo que compromete la fecundación, el desarrollo embrionario, la implantación y el embarazo después de la IVM convencional.

La eficiencia de la IVM convencional ha mejorado en los últimos años. Un estudio en Vietnam en 2018 evaluó a pacientes con SOP que recibieron tratamiento de IVM convencional con hCG. Se obtuvo una tasa de recién nacidos vivos (RNV) del 31,7% tras la primera transferencia de embriones, con una tasa acumulada de RNV del 33,7%. En otro estudio que comparó la eficiencia de la IVM y FIV convencionales, se encontró que las tasas de RNV eran similares (ciclos congelados, 42,6% para IVM vs. 30,3% para FIV; ciclos en fresco 40,2% para IVM vs. 38,2% para FIV).

Como se menciona anteriormente, en los últimos años se ha buscado mejorar la viabilidad y eficacia de la IVM convencional mediante el desarrollo de un sistema de cultivo IVM bifásico, también conocido como IVM de capacitación (CAPA-IVM). Este enfoque incluye un período de cultivo previo a la IVM, que dura aproximadamente 24 horas, antes de continuar con el cultivo IVM (*Figura 6b*). Dicho período de cultivo previo tiene como objetivo principal inhibir la reanudación de la meiosis y promover la sincronización entre la maduración nuclear y citoplasmática. Durante esta etapa, el medio de cultivo suele complementarse con moduladores de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), moduladores de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), 3-isobutil-1-metil-xantina (IBMX) o péptido natriurético de tipo C (CNP). El cultivo pre-IVM trata de imitar el microambiente del desarrollo in vivo de forma más precisa, centrándose en los ovocitos en etapas tempranas de desarrollo.

Teniendo en cuenta lo anterior, el IVM bifásico consta de dos pasos (*Figura 6b*):

1. Un período de cultivo previo a la IVM que inhibe la reanudación meiótica espontánea, mantiene la comunicación de uniones comunicantes entre las células del cúmulo y los ovocitos, y promueve la adquisición de la capacidad de desarrollo de los mismos.
2. Un período de cultivo de IVM que induce la reanudación y maduración meiótica.

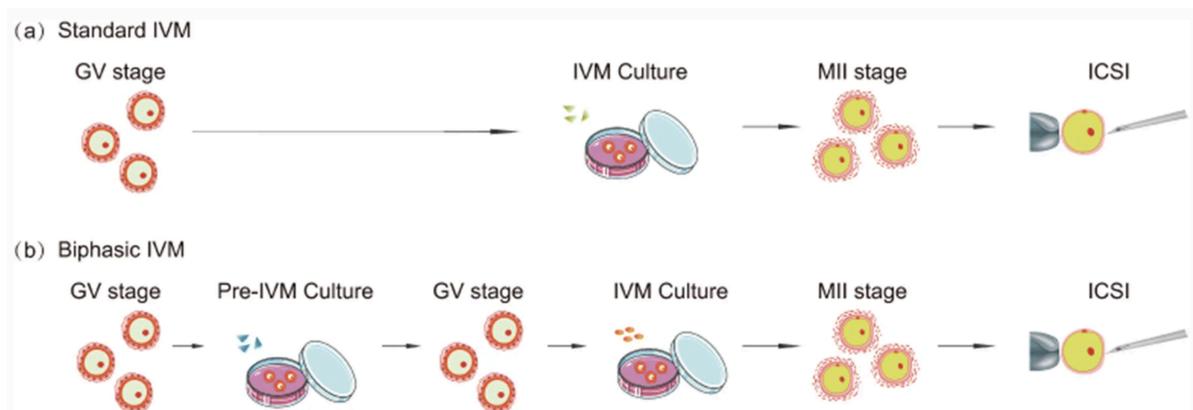


Figura 6. IVM estándar y sistema de cultivo bifásico de IVM.(10)

En estudios realizados en animales, este sistema de cultivo bifásico ha demostrado mejorar significativamente la eficiencia y viabilidad de la IVM durante la última década. El objetivo de este enfoque es hacer que la IVM sea más factible y efectiva, proporcionando un entorno óptimo para el desarrollo de los ovocitos.

Tal y como se mencionó previamente el péptido natriurético tipo C (CNP) es secretado por las células de la granulosa mural en el folículo y actúa como agonista del receptor 2 del péptido natriurético (NPR2) presente en las células del cúmulo. Esta unión desencadena la expresión de

cGMP y su entrada al ovocito a través de las uniones comunicantes (GJC en la *Figura 7*). Dentro del ovocito, dicho cGMP mantiene la concentración de cAMP al inhibir la activación de la fosfodiesterasa 3A (PDE3A), lo que resulta en la detención meiótica del ovocito en el folículo (*Figura 7*).

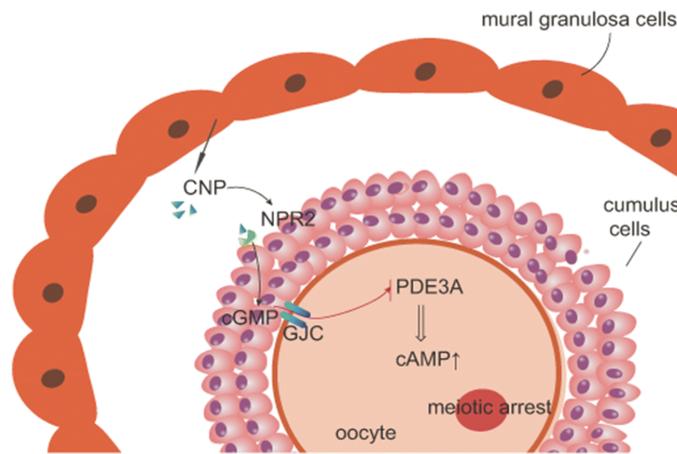


Figura 7. Mecanismo del CNP para inhibir la reanudación meiótica.(10)

En el entorno *in vitro*, se ha observado que el CNP inhibe con éxito la reanudación meiótica de los ovocitos inmaduros tras la extracción de folículos antrales pequeños. Varios estudios en animales (ratón, gato, porcino, bovino y caprino) respaldan esta capacidad del CNP como un inhibidor natural de la maduración de los ovocitos.

En presencia de CNP, la implementación de la IVM bifásica mejora la capacidad de desarrollo de los ovocitos. Estudios en animales han demostrado también que la IVM bifásica mediada por CNP mantiene la comunicación entre el ovocito y la célula del cúmulo, induce cambios en la configuración de la cromatina del ovocito, aumenta el diámetro de los ovocitos, el número de copias de DNA mitocondrial, la actividad mitocondrial y los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), disminuye los niveles de glutatión y mejora la función de las células del cúmulo.

En consecuencia, el cultivo pre-IVM mediado por CNP seguido de la IVM sincroniza la maduración nuclear y citoplasmática de los ovocitos, lo que resulta en una mejora significativa en la maduración y calidad citoplasmática. Los ovocitos maduros derivados de esta técnica presentan una mejor capacidad de desarrollo en comparación con la IVM convencional.

Cabe mencionar que para que este proceso se lleve a cabo correctamente es necesario que el ovocito no esté aislado, sino que se trate de un COC, ya que los ovocitos no expresan NPR2.(10)(11)

5.3. RECOGIDA DE OVOCITOS (OPU) EN IVM

La extracción de ovocitos inmaduros ha sido objeto de estudios en bovinos que han demostrado que los diámetros de las agujas de aspiración y la presión de aspiración tienen un impacto significativo en la morfología de los complejos ovocito-cúmulo, lo cual está relacionado con la capacidad de desarrollo y competencia de los ovocitos.

En humanos, se recomienda una presión de aspiración que varía entre 56 y 180 mm Hg, y el diámetro de la aguja de aspiración puede ser de 16 a 20 calibres. Para la extracción de ovocitos inmaduros en IVM, se recomienda una presión de vacío de 80 a 100 mm Hg. El uso de una presión de aspiración más baja junto con una aguja de calibre 20 puede mejorar la competencia de desarrollo de los ovocitos obtenidos en ciclos de IVM.

Además, las técnicas de OPU, el tiempo total empleado, el uso de un medio de lavado durante la extracción de ovocitos inmaduros y la regulación de la temperatura en el sistema de bomba de aspiración también son factores importantes para el potencial de desarrollo y la maduración citoplasmática de los ovocitos in vitro.(12)

5.4. LIMITACIONES. CALIDAD OVOCITARIA TRAS IVM.

Es un hecho que la IVM de ovocitos tiene menos éxito clínico que los regímenes convencionales de estimulación ovárica. Sin embargo, todavía existen interrogantes sobre los factores que contribuyen al rendimiento clínico reducido de la IVM. Se ha debatido si la cantidad de ovocitos disponibles, la calidad de los ovocitos IVM (o los embriones resultantes) o la receptividad endometrial son responsables de este rendimiento disminuido.

La calidad de los ovocitos IVM ha sido especialmente destacada, ya que es evidente que las condiciones in vitro no logran imitar fielmente el entorno fisiológico en el cual ocurre normalmente la maduración. Aunque se han realizado numerosos estudios que evalúan parámetros celulares o moleculares para determinar el impacto de la MIV en los ovocitos, hasta ahora ha habido escasez de estudios bien diseñados que proporcionen respuestas claras sobre este tema.

En un estudio realizado por Coticchio G. et al. se describe comparativamente la ultraestructura de los ovocitos madurados in vivo e in vitro. En esta investigación se emplean ovocitos madurados in vitro obtenidos de ciclos de IVM encapsulados en el complejo cúmulo-ovocito, lo cual es crucial para una maduración normal.

En general, sugiere que la organización ultraestructural es similar entre ovocitos madurados in vivo e in vitro. En ambos casos, la zona pelúcida, el tamaño y la forma de las células, la continuidad del oolema y la estructura de las microvellosidades se mantuvieron bien conservadas, así como la migración de los gránulos corticales (GC) y las mitocondrias. Además, los ovocitos madurados in vitro no presentaron vacuolas de forma general, lo que puede interpretarse como un marcador adicional de la calidad del ovocito.

Sin embargo, se observaron algunas diferencias en la distribución de los agregados de mitocondrias y túbulos del retículo endoplasmático liso (M-SER). Estos agregados comparten su función con complejos de pequeño tamaño M-V (mitocondria-vacuola), pudiendo actuar como reservorio de energía, nutrientes, factores de crecimiento, membranas y Ca^{2+} , conduciendo adecuadamente al ovocito a la fecundación. Los ovocitos madurados in vivo mostraron agregados M-SER numerosos y bien definidos, mientras que los madurados in vitro presentaron una representación reducida de estos agregados y una presencia más prominente de grandes complejos MV, lo que puede indicar una alteración en el secuestro/liberación de calcio durante la maduración in vitro y posiblemente influir negativamente en la fecundación. (13)

5.5. VARIANTES DE IVM

> IVM: 'La maduración in vitro de COC inmaduros recolectados de folículos antrales' (Figura 8A). Esta definición abarca ciclos sin estimulación o con estimulación con FSH (o análogos de FSH) para el crecimiento del folículo generando COC inmaduros (vesícula germinal: GV) tras la recuperación de ovocitos (OPU). Sin embargo, excluye los ciclos de cebado con gonadotropinas destinados a inducir la maduración de los ovocitos in vivo, como los agonistas de hCG o GnRH.

Esta definición no considera los ovocitos en etapa GV que han sido desprendidos de sus células del cúmulo recolectados en ciclos de FIV/ICSI hiperestimulados, a veces denominados incorrectamente como IVM de rescate.

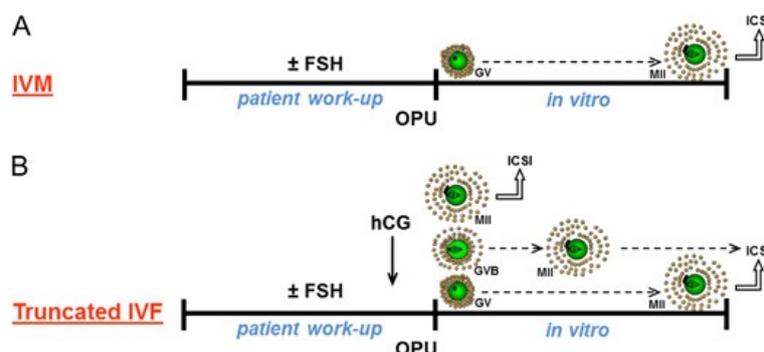


Figura 8. Representación esquemática de la definición de IVM y variantes de la misma.(15)

> 'FIV truncada': Originalmente, a los pacientes se les administraba un régimen de FSH más corto en comparación con un ciclo estándar de FIV/ICSI y se activaban con hCG o agonista de GnRH. Si se omitía la FSH y los pacientes recibían un solo bolo de hCG, como se describió en el estudio de Chian et al. (1999), se denominaba "FIV truncada sin FSH".

En ambos casos se genera una población mixta de ovocitos inmaduros (GV), maduros (MI) y totalmente maduros (MII), lo que requiere varias rondas de ICSI en un solo ciclo. (*Figura 8B*).(15)

5.6. IVM EN OVOCITOS PROCEDENTES DE TEJIDO OVÁRICO CRIOCONSERVADO

La criopreservación de tejido ovárico es ampliamente utilizada para preservar la fertilidad en niñas y mujeres jóvenes con alto riesgo de infertilidad tras los tratamientos anticancerígenos. Aunque el trasplante de corteza ovárica criopreservada es una opción para restaurar la fertilidad, hay ciertos casos donde este procedimiento no es posible ya sea por que corren el riesgo de contaminación de células malignas con el trasplante ortotópico del tejido (leucemias transmitidas por la sangre p.e.), porque no desean el trasplante ya que supondría la recuperación de la producción endógena de hormonas femeninas en caso de hombres transgénero, etc.

Sin embargo, el tejido ovárico criopreservado contiene ovocitos inmaduros que se pueden utilizar para obtener ovocitos maduros in vitro. Por lo tanto, en casos en los que el trasplante no es viable, es posible lograr la restauración de la fertilidad de manera segura en el laboratorio a través de la IVM de los ovocitos obtenidos mediante aspiración in situ de los folículos del ovario por laparoscopia/laparotomía o mediante aspiración ex vivo ya sea del tejido ovárico extirpado o del medio gastado durante la preparación de la corteza para la criopreservación de dicha corteza.(16)(17)

Este último protocolo, conocido como IVM de ovocitos de tejido ovárico (OTO-IVM), se está explorando cada vez más para maximizar el potencial de preservación de la fertilidad en estos casos mencionados ya que permite la recolección ex vivo de ovocitos inmaduros de pequeños folículos antrales presentes en el tejido ovárico obtenido.

El procedimiento estándar de criopreservación del tejido ovárico implica la extracción de la médula y la segmentación de la corteza ovárica en pequeños fragmentos. Estos fragmentos se someten a un proceso de congelación lenta para preservar la integridad del tejido. Aunque tradicionalmente se descartaba la médula residual, se ha descubierto que contiene una cantidad considerable de ovocitos inmaduros que pueden ser visualizados e identificados como complejos ovocito-cúmulo (COCs) bajo un microscopio estereoscópico.

Varios estudios han informado tasas de maduración de OTO-IVM que oscilan entre el 30% y el 40%, aunque se han reportado tasas de hasta el 68%. Sin embargo, es importante destacar que la literatura disponible sobre el desarrollo embrionario a partir de ovocitos OTO-IVM, especialmente hasta la etapa de blastocisto, es aún limitada. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que la tasa de fecundación de estos ovocitos es inferior en comparación con los ovocitos madurados in vivo mediante estimulación ovárica convencional.

Es necesario seguir investigando y recopilando datos para comprender mejor las características y el potencial de desarrollo de los ovocitos obtenidos mediante OTO-IVM. A pesar de las limitaciones actuales, se ha demostrado que el protocolo de OTO-IVM puede resultar en el nacimiento de bebés sanos, lo que respalda su utilidad como una opción viable para preservar la fertilidad en situaciones donde el trasplante de tejido ovárico está contraindicado. (16)(17)

5.7. PROS Y CONTRAS

El IVM ofrece varias ventajas en comparación con la FIV:

- > Se emplea una estimulación más suave o incluso nula, lo que reduce significativamente el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) en pacientes con ovarios poliquísticos o síndrome de ovario poliquístico (SOP).
- > El hecho anterior permite por lo tanto reducir los costos de medicación al requerir una menor cantidad de costosas gonadotropinas.
- > Cabe destacar también que se trata de un tratamiento más conveniente para los pacientes, ya que implica una menor carga de seguimiento médico, es decir, menos ecografías y análisis de sangre y por lo tanto reduce el estrés que suponen estos procedimientos a los pacientes.

A pesar de estas ventajas, inicialmente el IVM no fue ampliamente adoptado debido a los resultados clínicos subóptimos, con tasas de nacimientos vivos por ciclo inferiores al 20%. Sin embargo, estudios más recientes en centros especializados han mostrado mejoras significativas en las tasas de nacimientos vivos, llegando aproximadamente al 40%. En cualquier caso, actualmente las posibilidades de lograr un recién nacido vivo con IVM siguen siendo inferiores a las de la FIV convencional. (14)

5.8. GRUPOS DE PACIENTES QUE PODRÍAN BENEFICIARSE DE IVM

5.8.1. BENEFICIOS EN MUJERES CON SOP

La ausencia de requerimientos de hiperestimulación ovárica hace que IVM sea especialmente beneficiosa para pacientes con ovarios poliquísticos (PCO/PCOS) debido a su mayor riesgo de presentar una respuesta ovárica excesiva. Por otro lado, las pacientes con esta condición médica suelen tener un mayor recuento de folículos antrales, lo que supone una ventaja teniendo en cuenta que los ovocitos inmaduros recuperados de folículos tempranos para IVM tienen una capacidad reducida para reanudar la meiosis y avanzar a metafase II. Este hecho las convierte en candidatas especialmente idóneas para este procedimiento, lo que se evidencia en las tasas de éxito superiores de la IVM en mujeres con SOP en comparación con mujeres con ovulación normal.(14)

5.8.2. BENEFICIOS EN MUJERES CON CÁNCER

En mujeres con cáncer el principal beneficio radica de la preservación de la fertilidad, para lo que es necesario un equipo multidisciplinario que incluya especialistas en oncología ginecológica, cirugía general, oncólogos, equipo de tecnología de reproducción asistida, embriólogos clínicos y especialistas en genética. La criopreservación de tejido ovárico, la extracción de ovocitos inmaduros de muestras de tejido ovárico y la maduración in vitro de ovocitos se han convertido en elementos cruciales para abordar desafíos en pacientes con cáncer, especialmente cuando se requiere un tratamiento oncológico urgente.

Los notables avances en los tratamientos contra el cáncer han aumentado la supervivencia en mujeres jóvenes lo que ha llevado a los profesionales médicos a implementar estrategias de preservación de la fertilidad con el fin de prevenir las consecuencias principales de las intensas terapias antineoplásicas.

El hecho de que IVM pueda realizarse en periodos relativamente cortos de tiempo y sin necesidad de estimulación ovárica, resulta de gran utilidad para preservar la fertilidad en este tipo de pacientes bien porque no pueden retrasar la quimioterapia, o bien por tratarse de tumores hormonodependientes, como el cáncer de mama, donde la exposición a elevadas concentraciones de estradiol puede acelerar la enfermedad.

Por otro lado, aunque IVM suele realizarse durante la fase folicular, se ha demostrado el éxito de la recogida y maduración de ovocitos durante la fase lútea, lo que la convierte en una buena opción en pacientes que tienen programada una quimioterapia inminente.

Cabe mencionar que IVM ha encontrado un nuevo campo de aplicación en muestras de ooforectomía, como se menciona anteriormente, donde los ovocitos inmaduros se recuperan y se criopreservan, registrándose casos de nacimientos de bebés a partir de estos ovocitos. (12,14)

5.8.3. BENEFICIOS EN OTROS GRUPOS DE MUJERES

La preservación de la fertilidad no se limita únicamente a pacientes con cáncer o SOP, sino que también puede ser utilizada en otras condiciones médicas como:

- > Insuficiencia ovárica prematura (IOP). Los ovocitos pueden ser recuperados de niñas en etapa pospuberal en riesgo de sufrir IOP debido a diferentes causas como el síndrome de Turner o el cáncer. Dichos ovocitos han sido madurados y criopreservados en niñas que han optado por preservar su fertilidad, y todos los procedimientos requeridos han sido bien tolerados.
- > Anomalías cromosómicas y genéticas (síndrome de Turner, 47, XXX, enzima XGALT frágil o mutación del receptor de FSH).
- > Enfermedades autoinmunes (tiroideas, poliglandulares, endocrinas múltiples).
- > Factores ambientales (malaria, varicela, Shigella pueden causar POF).
- > Menopausia quirúrgica (enfermedad ovárica benigna, ooforectomía profiláctica).
- > Agentes citotóxicos para enfermedades hematológicas y autoinmunes.
- > Fertilidad pospuesta, etc. (12)

6. RESULTADOS ACTUALES DE IVM

Recientemente, se ha aplicado en la IVM humana las mejoras logradas en el sistema de cultivo bifásico que se emplea en animales. Sánchez et al. informó por primera vez de la aplicación de IVM bifásica mediada por CNP en humanos, demostrando mejoras significativas en la tasa de maduración meiótica, la tasa de embriones en día 3 y la tasa de blastocistos de buena calidad, especialmente en ovocitos provenientes de folículos antrales pequeños en pacientes con estimulación mínima de ovario. Además, se vio que este método no aumentaba las tasas de aneuploidía de los blastocistos.

Vuong et al. también confirmaron los beneficios de la IVM bifásica mediada por CNP en pacientes con SOP y fueron los primeros en informar sobre la tasa de nacidos vivos. La IVM

bifásica mediada por CNP mejoró significativamente la tasa de maduración y de embarazo clínico en comparación con la IVM estándar en pacientes con SOP.

En otro estudio publicado por Lan N. Vuong et al. en 2020, se compararon los resultados clínicos entre la IVM y la FIV en pacientes con un alto recuento de folículos antrales. Se observó una tasa de maduración del 64,3% en el grupo IVM siendo la tasa de embarazo clínico y la tasa de nacidos vivos ligeramente inferiores en el grupo IVM en comparación con el grupo de FIV. Además, las tasas acumuladas de embarazos en curso fueron más altas en el grupo de FIV, por lo que la inferioridad de la IVM mediada por CNP frente a la FIV convencional seguía siendo evidente.

A pesar de los avances en la IVM bifásica, actualmente no existe un medio de cultivo disponible comercialmente para el pre-IVM y la IVM. Cada laboratorio debe preparar su propio medio de cultivo, lo que puede dar lugar a variaciones en la composición y posibles errores. Sin embargo, si en el futuro se lograra comercializar un medio de cultivo para la IVM bifásica, se garantizaría su calidad y seguridad, lo que favorecería el uso generalizado de este procedimiento.

Aunque la eficacia de la IVM es menor que la de la FIV, es importante considerarla debido a sus ventajas en términos de seguridad, comodidad, costo y prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica (OHSS). Además, en casos especiales en los que la FIV es difícil de abordar, la IVM se presenta como una alternativa viable y segura.(10)

7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Tras llevar a cabo una revisión bibliográfica exhaustiva sobre la IVM, se puede concluir que se trata de una alternativa prometedora en reproducción asistida. A pesar de no haber alcanzado todavía la misma eficacia que la FIV convencional sigue siendo una opción atractiva para ciertos grupos de pacientes presentando ventajas como la reducción del riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica, la menor carga de medicación hormonal, etc.

Además, ofrece beneficios en pacientes de alto riesgo, siendo especialmente beneficiosa para aquellas con síndrome de ovario poliquístico y mujeres con cáncer que necesitan preservar su fertilidad antes de someterse a tratamientos agresivos como la quimioterapia o la radioterapia.

A lo largo de los años, se han realizado avances significativos en la técnica de la IVM, lo que ha llevado a mejoras en las tasas de éxito, siendo el más relevante el cultivo bifásico para mejorar la calidad de los ovocitos madurados in vitro. A pesar de ello todavía existe una

necesidad continua de investigación para comprender mejor los mecanismos involucrados en la maduración citoplasmática de los ovocitos y para superar las limitaciones actuales en cuanto a la calidad y desarrollo de los ovocitos madurados.

En conclusión, la IVM continúa siendo un campo en desarrollo en el ámbito de la reproducción asistida que, si bien ha demostrado beneficios en ciertos grupos de pacientes y ha mejorado en términos de eficacia, sigue siendo objeto de investigación para optimizar sus resultados.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Mastrorocco A, Cacopardo L, Temerario L, Martino NA, Tridente F, Rizzo A, et al. Investigating and modelling an engineered millifluidic in vitro oocyte maturation system reproducing the physiological ovary environment in the sheep model. *Cells* [Internet]. 2022 [citado el 3 de abril de 2023];11(22). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cells11223611>
2. Trounson A, Gosden RG, Eichenlaub-Ritter U. *Biology and pathology of the oocyte: Role in fertility, medicine and nuclear reprogramming*. 2nd ed. Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press; 2013.
3. Warzych E, Lipinska P. Energy metabolism of follicular environment during oocyte growth and maturation. *J Reprod Dev* [Internet]. 2020 [citado el 8 de abril de 2023];66(1):1–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1262/jrd.2019-102>
4. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine, the Society of Reproductive Biologists and Technologists, and the Society for Assisted Reproductive Technology. Electronic address: jgoldstein@asrm.org. In vitro maturation: a committee opinion. *Fertil Steril* [Internet]. 2021 [citado el 11 de abril de 2023];115(2):298–304. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.11.018>
5. Telfer EE. Future developments: In vitro growth (IVG) of human ovarian follicles. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2019 [citado el 21 de abril de 2023];98(5):653–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/aogs.13592>
6. Turathum B, Gao E-M, Chian R-C. The function of cumulus cells in oocyte growth and maturation and in subsequent ovulation and fertilization. *Cells* [Internet]. 2021 [citado el 30 de abril de 2023];10(9):2292. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cells10092292>
7. Abbara A, Clarke SA, Dhillo WS. Novel concepts for inducing final oocyte maturation in in vitro fertilization treatment. *Endocr Rev* [Internet]. 2018 [citado el 9 de mayo de 2023];39(5):593–628. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1210/er.2017-00236>
8. Kirillova A, Smitz JEJ, Sukhikh GT, Mazunin I. The role of mitochondria in oocyte maturation. *Cells* [Internet]. 2021 [citado el 16 de mayo de 2023];10(9):2484. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cells10092484>
9. Strączyńska P, Papis K, Morawiec E, Czerwiński M, Gajewski Z, Olejek A, et al. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes.

- Reprod Biol Endocrinol [Internet]. 2022[citado el 16 de mayo de 2023];20(1):37. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12958-022-00906-5>
10. Gong X, Li H, Zhao Y. The improvement and clinical application of human oocyte in vitro maturation (IVM). Reprod Sci [Internet]. 2022 [citado el 21 de mayo de 2023];29(8):2127–35. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s43032-021-00613-3>
 11. Yang H, Kolben T, Meister S, Paul C, van Dorp J, Eren S, et al. Factors influencing the in vitro maturation (IVM) of human oocyte. Biomedicines [Internet]. 2021 [citado el 30 de mayo de 2023];9(12):1904. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121904>
 12. Hatırnaz Ş, Ata B, Hatırnaz ES, Dahan MH, Tannus S, Tan J, Tan SL. Oocyte in vitro maturation: A systematic review. Turk J Obstet Gynecol. 2018 [citado el 6 de junio de 2023];15(2):112-125. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4274/tjod.23911>
 13. Coticchio G, Dal Canto M, Fadini R, Mignini Renzini M, Guglielmo MC, Miglietta S, et al. Ultrastructure of human oocytes after in vitro maturation. Mol Hum Reprod [Internet]. 2016 [citado el 15 de junio de 2023];22(2):110–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/molehr/gav07>
 14. Vuong LN, Ho TM, Gilchrist RB, Smitz J. The place of in vitro maturation in assisted reproductive technology. FandR [Internet]. 2019 [citado el 15 de junio de 2023];01(01):11–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1142/s2661318219300022>
 15. De Vos M, Smitz J, Thompson JG, Gilchrist RB. The definition of IVM is clear—variations need defining. Hum Reprod [Internet]. 2016 [citado el 23 de junio de 2023];31(11):2411–5. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/humrep/dew208>
 16. Telfer EE, Andersen CY. In vitro growth and maturation of primordial follicles and immature oocytes. Fertil Steril [Internet]. 2021 [citado el 28 de junio de 2023];115(5):1116–1125. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.03.004>
 17. De Roo C, Tilleman K. In vitro maturation of oocytes retrieved from ovarian tissue: Outcomes from current approaches and future perspectives. J Clin Med [Internet]. 2021 [citado el 3 de julio de 2023];10(20):4680. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm10204680>

